Dott. C. GORINI, Docente d'Igiene

OSSERVAZIONI

SULLA

DIAGNOSI BATTERIOLOGICA DELLA MORVA

Comunicaz. fatta all'Associazione Medica Lombarda
Seduta del 15 Marzo 1896.

MAY 27
LIBRARY

Dott. C. GORINI, docente d'igiene

MAY 27

Osservazioni sulla diagnosi batteriologica della morva.

Avendo avuto recente occasione (grazie alla cortesia dell'egregio capitano veterinario dott. Luigi Quarti), di fare una diagnosi batteriologica di morva in un cavallo del IX Reggimento Artiglieria, riferisco alcune osservazioni che parmi aggiungano qualcosa a quanto già si conosce sull'argomento, dopo il lavoro fondamentale del Löffler (1) ed i contributi di altri autori.

Per stabilire la diagnosi si inocularono sottocute due cavie femmine (in mancanza di maschi) col secreto nasale del cavallo, e poi una terza cavia colla cultura pura estratta da una delle precedenti.

Il decorso dell'infezione fu tipico in tutti e tre i casi: già dopo due, tre giorni, tumore al luogo d'innesto, con rapido rammollimento e versamento di pus caseoso all'esterno; in seguito, tumefazione e rammollimento purulento delle ghiandole inguinali del lato corrispondente e, in un caso, anche del lato opposto; tumefazione dei genitali esterni, specialmente in un caso: processi suppurativi nell'occhio (in due casi) e nelle narice (in un caso) del lato corrispondente; morte rispettivamente in 13, 15 e 17 giorni, con reperto di noduli miliari nella milza e, in un caso, anche nel fegato.

Avverto però che non ho atteso la tardiva morte degli animali per accertare la malattia, imperocchè già due giorni dopo l'inoculazione mi riuscì di allestire preparati e culture positive col materiale

(1) *Arbeiten a. d. Kais. Ges-Amte*, 1886, Vol. I, pag. 141.

estratto — ad animale ancor vivo — mediante ago di platino, dal tumore sottocutaneo, previa asepsi e incisione della cute nel luogo d'innesto.

Le mie osservazioni si riferiscono: *a)* ai preparati microscopici, — *b)* alle colture.

A) Circa ai preparati. — Si sa che la dimostrazione microscopica dei bacilli della morva nel pus e nei tessuti malati è resa difficile pel fatto che, mentre da un lato essi vi si trovano in scarso numero, non si prestano poi dall'altro nè al metodo di colorazione Gram nè ai processi di doppia colorazione, imperocchè quei bacilli sono altrettanto facili a decolorarsi quanto lo sono a colorarsi. L'unico espediente che si suggerisce dagli A. per metterli in rilievo è di lavare i preparati — dopo di averli colorati con una delle soluzioni Löffler o Ehrlich o Kühne — in acqua debolmente acidulata con acido solforico, od ossalico, od acetico, o cloridrico, ecc., in modo insomma di ottenere soltanto uno smorzamento nella tinta degli elementi cellulari lasciando più carica quella dei bacilli (1).

Si capisce come in tal guisa si corra rischio di decolorare soverchiamente il tutto e difficoltare anzichè avvantaggiare la ricerca dei microorganismi.

Io ho trovato di poter impiegare invece con successo una miscela analoga a quella proposta dal Chenzinsky (2) per la colorazione dei preparati di sangue malarico.

Il liquido colorante va preparato ogni volta *di fresco* (perchè l'eosina perde presto il proprio potere colorante) mescolando:

1 parte di soluzione acquosa satura di bleu metilene,
1 parte di soluzione d'eosina al $^1/_2$ 0[0 in alcool al 70.°,
2 parti di acqua stillata.

Un bagno in questa miscela, della durata di pochi minuti per i vetrini e della durata di $^1/_2$ a 1 ora per le sezioni, basta per avere dei buoni preparati, nei quali, sopra un fondo colorato in rosso, spiccano i nuclei e i bacilli colorati in bleu, questi ultimi però con una tinta più carica dei primi.

---

(1) Bordoni-Uffreduzzi. « I microparassiti, ecc. » 2.ª edizione, 1894, pag. 163-165.

(2) *Centralbl. f. Bakt.*, III, 1888, p. 457.

I preparati su copraoggetti vengono lavati in acqua e trattati come al solito; le sezioni vengono pure lavate in acqua, poscia essicate sul vetrino portaoggetti secondo il metodo Unna (1), e chiuse in balsamo. *(Furono presentati alla Società un preparato di pus ed uno di sezione di ghiandola inguinale, colorati col metodo suesposto).*

B) Circa alle culture. — 1.° Conoscendo anche per mia esperienza (nei trapianti delle culture di Laboratorio che vado facendo da 5 anni) la predilezione del bacillo morvoso per l' agar glicerinato, dove secondo Kranzfeld (2) esso si sviluppa anche alla temperatura ambiente, io, alla morte di una delle due prime cavie, per isolare il bacterio specifico, ricorsi alle piatte per strisciamento sopra agar glicerinato al 7 0[0 solidificato in scatole Petri, che misi a 37.° C. Senonchè sopra sei piatte allestite due col pus delle località, due col pus di una ghiandola inguinale e due coi noduli splenici debitamente spappolati, due sole (una di pus ghiandolare e una dei noduli) diedero risultato sicuramente positivo, presentando fra il 3.° e 4.° giorno di incubazione alcune poche colonie di morva, ben isolate, rotondeggianti, biancastre, splendenti; delle altre, una (dei noduli) rimase sterile e tre (di pus) si coprirono già al 2.° giorno di abbondanti colonie di stafilococcus, *aureus* e *albus,* onde rinunciai a ricercare framezzo ad essi i bacilli morvosi, tanto più che questi hanno notoriamente uno sviluppo assai più lento di quelli.

Debbo però aggiungere che non avvi bisogno di attendere la comparsa di colonie macroscopiche per accertare la presenza di bacilli morvosi, giacchè già dopo 18 ore a 37.°, osservando le due piatte positive con un ingrandimento di 100 diam., potei rilevare dei gruppi di goccioline rotonde, trasparenti, incolore, le quali solo più tardi confluirono dando origine alle colonie biancastre suddescritte; queste colonie infatti, esaminate al microscopio, presentavano ancora il loro contenuto gialliccio come picchiettato da tante macchiette a tinta più carica, che ricordavano le goccioline primordiali.

Strisciando coll'ago di platino su quelle goccioline raccolsi un materiale che nei preparati si dimostrò composto di forme giovanissime

---

(1) *Centralbl. f. Bakt.*, III, 1888, pag. 314.
(2) *Centralbl. f. Bakt.*, 1887, II, pag. 273.

di bacilli morvosi, tuttora mescolati a residui di globuli bianchi. Orbene; debbo dire che tali goccioline furono da me avvertite sul principio qua e là anche nelle altre piatte, ma in seguito scomparvero, evidentemente soprafatte dall' invasione delle colonie stafilococciche.

Ricordo che analoga osservazione fecero l'Abel (1) e l'Ohlmacher (2) a proposito della diagnosi della difterite, che cioè non occorre aspettare lo sviluppo manifesto delle colture per decidere sulla esistenza dai bacilli specifici; questi bene spesso già dopo 6-4 ore a 37.° sono dimostrabili in discreta abbondanza nel liquido di condensazione e sulla superficie dell'agar o del siero di coltura.

2.° Avendo fatto dei trapianti paralleli su patate e su agar glicerinato tanto dalle goccioline microscopiche quanto dalle colonie macroscopiche comparse nelle piatte, ho notato che gli innesti su patate tenuti a 37.° entro 48-72 ore, erano tutti positivi, mentre di quelli su agar, alcuni tardarono a svilupparsi fino al 4.°, 5.° giorno, altri rimasero affatto sterili. Volli accertarmi che ciò non dipendesse da una cattiva qualità dell'agar, trapiantando sulle medesime provette rimaste sterili le colture sviluppatesi rigogliose sulle patate; secondi trapianti riuscirono tutti positivi in 48 ore a 37.°, ed anzi uno di essi servì poi di materiale di inoculazione per la 3.ª cavia.

Questo reperto, già per sè stesso dimostrativo, fu poi confermato dalle seguenti prove ulteriori:

a) Dal pus ghiandolare e dai noduli splenici della 2.ª cavia (inoculata con secreto nasale del cavallo), feci direttamente 4 strisciamenti su patate e 4 su agar glicerinato.

Su tutti i primi quattro si svilupparono colonie caratteristiche di morva facilmente riconoscibili e isolabili da alcune poche colonie estranee di ben diverso aspetto e colore; sulle quattro provette di agar si svilupparono soltanto molte colonie di stafilococchi e alcune colonie di un bacillo (?) che si dimostrò poi incapace di crescere sulle patate.

b) Dalla cavia 3.ª due giorni dopo che era stata inoculata colla cultura pura, si fecero, a animale ancor vivo, penetrando coll'ago di

---

(1) *Centralbl. f. Bakt.*, XIX, Sez. I, pag. 162.

(2) *Medical News*, 1895, 4 Maggio.

platino — previa incisione — nel tumore sottocutaneo in principio di rammollimento, quattro innesti su agar glicerinato e quattro su patate.

Osservo che nei preparati microscopici allestiti contemporaneamente col medesimo materiale si trovò a stento qualche raro bacillo morvoso. Fra il secondo e il terzo giorno a 37.° gli innesti su patate diedero *tutti* una cultura pura di morva; gli innesti su agar rimasero *tutti* sterili ancora dopo sei giorni a 37.°, però riseminati colle colture sviluppatesi sulle patate, diedero risultato positivo entro 24-48 ore a 37.°

c) Dalla medesima cavia 3.ª, venuta a morte, si allestirono 4 innesti su patate e 4 su agar glicerinato col pus ghiandolare; 2 su patate e 2 su agar glicerinato col pus della località; 1 su patata e 1 su agar glicerinato col materiale di spappolamento dei noduli spenici. Gli innesti su patate riuscirono *tutti* positivi (colture pure di morva); degli innesti su agar riuscirono positivi soltanto i *due* provenienti dalla località; gli altri cinque rimasero sterili, ma riseminati colle colture sviluppatesi sulle patate diedero risultato positivo.

In tal modo io ho potuto acquistare la convinzione che il bacillo della morva da me isolato, tanto in simbiosi cogli stafilococchi piogeni (nelle due cavie inoculate con secreto nasale), quanto da solo (nella terza cavia inoculata con cultura pura di morva) preferisce — almeno quale primo *medium* di coltura artificiale appena estratto dall'organismo — le patate di fronte all'agar glicerinato, contrariamente a quanto avrebbe dovuto essere stando all'asserzione del Kranzfeld, ripetuta poi da tutti i trattatisti, che cioè l'agar glicerinato è il *medium* più opportuno per lo sviluppo del bacillo morvoso (1).

Riconosco che da un caso isolato non è lecito trarre delle leggi generali; tuttavia ritengo che la mia modesta osservazione possa valere, se non altro, a stabire questo fatto *che, non sempre l'agar glicerinato è il medium più opportuno per lo sviluppo del bacillo morvoso, e che, specialmente quando si tratta di estrarlo dai ma-*

---

(1) Il Kranzfeld (l. cit., pag. 274) non esita a dichiararlo superiore anche al siero di sangue già proposto dal Löffler. Io non ho fatto esperienze in proposito; ad ogni modo mi permetto di osservare che il Kranzfeld si è servito di siero di vitello, mentre il Löffler (l. cit., pag. 180) raccomanda il siero di cavallo o quello di montone e invece sconsiglia precisamente il siero di vitello.

teriali patologici, conviene, accanto alle piatte di agar glicerinato, ricorrere anche alle patate, utilizzando queste ultime non soltanto come mezzo di identificazione, per il ben noto sviluppo caratteristico che ivi assume il bacillo morvoso, sibbene anche come un vero e proprio mezzo di coltura isolante, che può riuscire talora più agevole e più sicuro dello stesso agar glicerinato (1).

3.° Come ultima osservazione, per quanto io sappia, non ancora registrata nella letteratura, riferisco che il bacillo della morva tenuto a 37.° coagula in 10 a 12 giorni il latte a mo' di presame, con reazione neutra, senza ulteriore peptonificazione nè altra modificazione del coagulo.

Questo stesso comportamento l'ho riscontrato nel bacillo di cui è sopra parola e in altra coltura di morva che tengo in Laboratorio ancora vivente da oltre cinque anni.

Pavia, 14 Febbraio 1896.

---

(1) Per amore di analogia ricordo che il Lubinski (*Centrablatt f. Bakt.*, XVIII, I. Sez., pagina 125) ultimamento ha riscontrato anche per il bacillo dolla tubercolosi (che ha alcuni punti di contatto con quello dolla morva) un'energia di sviluppo doppia nei mezzi nutritivi addizionati con succo di patate in confronto di quelli addizionati con glicerina.